

POLYAMINO ACIDS FUNCTIONALISED WITH AT LEAST ONE HYDROPHOBIC GROUP AND APPLICATIONS THEREOF PARTICULARLY THERAPEUTIC APPLICATIONS

Publication number:	WO2004108796 (A1)	Also published as:
Publication date:	2004-12-16	<input checked="" type="checkbox"/> FR2855521 (A1)
Inventor(s):	ANGOT STEPHANIE [FR]; BREYNE OLIVIER [FR]; CHAN YOU-PING [FR] +	<input checked="" type="checkbox"/> US2007010652 (A1)
Applicant(s):	FLAMEL TECH SA [FR]; ANGOT STEPHANIE [FR]; BREYNE OLIVIER [FR]; CHAN YOU-PING [FR] +	<input checked="" type="checkbox"/> JP2007501321 (T)
Classification:		<input checked="" type="checkbox"/> EP1633800 (A1)
- International:	<i>A61K47/48; A61K8/88; A61Q15/00; A61Q50/00; C08G69/10; C08G69/48; A61K47/48; A61K47/80; A61Q19/00; A61Q90/00; (IPC1-7): A61K47/34; A61K47/42; A61K9/51; C08G69/10; C08G69/48</i>	<input checked="" type="checkbox"/> CA2526435 (A1)
- European:	A61K47/48R21; A61K9/88; A61Q19/00; C08G69/10; C08G69/48	<input checked="" type="checkbox"/> WO0030618 (A1)
Application number:	WO2004FR50209 20040528	<input checked="" type="checkbox"/> US2002169125 (A1)
Priority number(s):	FR20030050190 20030528	<input checked="" type="checkbox"/> WO0078791 (A2)
		<input checked="" type="checkbox"/> EP0179023 (A2)
		<input checked="" type="checkbox"/> WO8703891 (A1)

Abstract of WO 2004108796 (A1)

The invention relates to novel materials based on biodegradable polyamino acids, particularly useful for the vectorisation of active principals (PA). The invention further relates to novel, pharmaceutical, cosmetic, dietary or physico-therapeutic compositions based on said polyamino acids. The aim of the invention is to provide a novel and generic raw material, for use in the vectorisation of PA said with an optimal match for all the requirements of the type: biocompatibility, biodegradability, stability, ability to easily associate with numerous active principals or to solubilise the same and to liberate said active principals *in vivo*. Said aim is achieved with polyamino acids comprising aspartic and/or glutamate units, some of which carry at least one graft, characterised in that at least one of said grafts is bonded to an aspartic or glutamate unit by means of an amino acid spacer based on Leu, and/or Ieu, and/or Val, and/or Phe and a hydrophobic group with C6-C30 is connected by an ester bond to the spacer. Said specific amino acid spacers guarantee an improved stability to hydrolysis and a higher association quotient with proteins when compared with conventional analogous products. Said polymers have the advantage of easily and economically being transformed into vectorisation particles for active principals said particles being themselves able to form stable aqueous colloidal suspensions.

~~~~~  
Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
16 décembre 2004 (16.12.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 2004/108796 A1**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : **C08G 69/10, A61K 47/34, 47/42, 9/51, C08G 69/48**

(21) Numéro de la demande internationale : **PCT/FR2004/050209**

(22) Date de dépôt International : 28 mai 2004 (28.05.2004)

(25) Langue de dépôt : **français**

(26) Langue de publication : **français**

(30) Données relatives à la priorité :  
03 50190 28 mai 2003 (28.05.2003) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : **FLAMEL TECHNOLOGIES [FR/FR]; 33 Avenue du Docteur Georges Lévy, F-69200 VENISSIEUX (FR)**

(72) Inventeurs et

(75) Inventeur/Déposants (pour US seulement) : **ANGOT, Stéphanie [FR/FR]; 123 bis Cours Albert Thomas, F-69003 LYON (FR), BREYNE, Olivier [FR/FR]; 5 rue Rossot, F-69004 LYON (FR), CHAN, You-Ping [FR/FR]; 14 Bd Jean XXIII, F-69008 LYON (FR)**

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : **AI, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, CZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GI, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, LZ, LC, IL, LR, LS, LT, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.**

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : **ARIPO (BW, GI, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), caribien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CT, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).**

*[Suite sur la page suivante]*

(54) **Titre: POLYAMINO ACIDS FUNCTIONALISED WITH AT LEAST ONE HYDROPHOBIC GROUP AND APPLICATIONS THEREOF PARTICULARLY THERAPEUTIC APPLICATIONS**

(54) **Titre : POLYAMINOACIDES FONCTIONNALISÉS PAR AU MOINS UN GROUPEMENT HYDROPHOBÉ ET LEURS APPLICATIONS NOTAMMENT THERAPEUTIQUES**

(57) **Abstract:** The invention relates to novel materials based on biodegradable polyamino acids, particularly useful for the vectorisation of active principals (PA). The invention further relates to novel, pharmaceutical, cosmetic, dietary or phytotherapeutic compositions based on said polyamino acids. The aim of the invention is to provide a novel polymeric raw material, for use in the vectorisation of PA and with an optimal match for all the requirements of the type: biocompatibility, biodegradability, stability, ability to easily associate with numerous active principals or to solubilise the same and to liberate said active principals in vivo. Said aim is achieved with polyamino acids comprising aspartic and/or glutamate units, some of which carry at least one graft, characterised in that at least one of said grafts is bonded to an aspartic or glutamate unit by means of an amino acid spacer based on Leu, and/or Ileu, and/or Val, and/or Phe and a hydrophobic group with C6-C30 is connected by an ester bond to the spacer. Said specific amino acid spacers guarantees an improved stability to hydrolysis and a higher association quotient with proteins when compared with conventional analogous products. Said polymers have the advantage of easily and economically being transformed into vectorisation particles for active principals said particles being themselves able to form stable aqueous colloidal suspensions.

(57) **Abrév:** La présente invention concerne des nouveaux matériaux à base de polyaminoacides biodegradables, utiles notamment pour la vectorisation de principe(s) actif(s) (PA). L'invention vise aussi de nouvelles compositions pharmaceutiques, cosmétiques, diététiques ou phytothérapeutiques à base de ces polyaminoacides. Le but de l'invention est de fournir une nouvelle matière première polymère, susceptible d'être utilisée pour la vectorisation de PA et permettant de satisfaire de manière optimale à toutes les spécifications requises en l'espèce : biocompatibilité, biodégradabilité, stabilité, aptitude à s'associer facilement avec de nombreux principes actifs ou à les solubiliser, et à libérer ces principes actifs in vivo. Ce but est atteint par la présente invention qui concerne tout d'abord des polyaminoacides comprenant des unités aspartiques et/ou des unités glutamiques, dont certaines sont portées d'au moins un greffon, caractérisé en ce qu'au moins un de ces greffons est relié à une unité aspartique ou glutamique, par l'intermédiaire d'un espaceur "acide aminé" à base de Leu, et/ou Ileu, et/ou Val, et/ou Phe et en ce que un groupement hydrophobe en C6-C30 est relié par une liaison ester à l'espaceur. Ces espaceurs "acide aminé" spécifiques assurent une meilleure stabilité à l'hydrolyse et un taux d'association avec des protéines plus élevé en comparaison avec les produits analogues de l'art antérieur. Avantageusement, ces polymères sont aussi aptes à se transformer aisément et économiquement en particules de vectorisation de principes actifs, ces particules étant elles même propres à former des suspensions colloïdales aqueuses stables.

**WO 2004/108796 A1**

**Publiée :**

- *avec rapport de recherche internationale*
- *avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont requises*

*En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.*

**POLYAMINOACIDES FONCTIONNALISÉS PAR AU MOINS UN  
GROUPEMENT HYDROPHOBE ET LEURS APPLICATIONS  
NOTAMMENT THÉRAPEUTIQUES**

La présente invention concerne des nouveaux matériaux à base de 5 polyaminoacides biodégradables, utiles notamment pour la vectorisation de principe(s) actif(s) (PA).

L'invention vise aussi de nouvelles compositions pharmaceutiques, cosmétiques, diététiques ou phytosanitaires à base de ces polyaminoacides. Ces compositions peuvent être du type de celles permettant la vectorisation de PA et se présentant de préférence sous 10 forme d'émulsions, de micelles, de particules, de gels, d'implants ou de films.

Les PA considérés sont, avantageusement, des composés biologiquement actifs et qui peuvent être administrés à un organisme animal ou humain par voie orale, parentérale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intra-musculaire, intradermique, intrapéritonéale, intracérébrale, buccale, etc. 15 Les PA plus particulièrement mais non limitativement concernés par l'invention sont des protéines, des glycoprotéines, des peptides, des polysaccharides, des lipopolysaccharides, des oligo ou des polynucléotides, et des molécules organiques. Mais il peut aussi s'agir de produits cosmétiques ou de produits phytosanitaires, tels que des herbicides, des insecticides, des fongicides, etc.

20 Dans le domaine de la vectorisation des principes actifs notamment médicamenteux, il existe un besoin, dans beaucoup de cas :

- de les protéger contre la dégradation (hydrolyse, précipitation sur site, digestion enzymatique etc.) jusqu'à ce qu'ils atteignent leur site d'action,
- et/ou de contrôler leur vitesse de libération afin de maintenir un niveau thérapeutique sur une durée définie, soit
- et/ou de véhiculer (en les protégeant) au site d'action.

30 A ces fins, plusieurs types de polymères ont été étudiés et certains sont même disponibles commercialement. On peut citer par exemple les polymères du type polylactique, polylactique-glycolique, polyoxyéthylène-oxypropylène, polyaminoacide ou encore polysaccharide. Ces polymères constituent des matières premières permettant de fabriquer, par exemple, des implants massiques, des microparticules, des nanoparticules, des vésicules, des micelles ou des gels. Outre le fait que ces polymères doivent être adaptés à la fabrication de tels systèmes, ils doivent également être biocompatibles, non-toxiques, non-immunogènes, économiques et ils doivent pouvoir être facilement éliminés du corps et/ou biodégradables. Sur ce dernier aspect, il est de surcroît essentiel que la 35 biodégradation dans l'organisme génère des produits non-toxiques.

A titre d'illustration de l'art antérieur concernant des polymères employés comme matières premières pour la réalisation de systèmes de vectorisation de PA, divers brevets ou demandes de brevet ou articles scientifiques sont évoqués ci-après.

5 Le brevet US-B-4,652,441 décrit des microcapsules de polylactide encapsulant l'hormone LH-RH. Ces microcapsules sont produites en préparant une émulsion eau-dans-huile-dans-eau et comprennent une couche interne aqueuse contenant l'hormone, une substance (gélatine) fixant cette dernière, une couche huileuse de polylactide, ainsi qu'une couche externe aqueuse (alcool polyvinyle). La libération du PA peut se faire sur une 10 période de plus de deux semaines après injection sous-cutanée.

Le brevet US-B-6,153,193 décrit des compositions à base de micelles de poly(oxyéthylène)-poly(oxypropylène) amphiphiles, pour la vectorisation d'anti-cancéreux tel que l'adriamycine.

15 Akiyoshi et al. (J. Controlled Release 1998, 54, 313-320) décrivent des pullulans qui sont rendus hydrophobes par greffage de cholestérol et qui forment des nanoparticules dans l'eau. Ces nanoparticules aptes à se complexer de manière réversible avec l'insuline, forment des suspensions colloïdales stables.

20 Le brevet US-B-4,351,337 décrit des copolyaminoacides amphiphiles, à base de leucine et de glutamate, utilisables sous forme d'implants ou de microparticules pour la libération contrôlée de principes actifs. La libération de ces derniers peut se faire sur une durée très longue dépendant de la vitesse de dégradation du polymère.

25 Le brevet US-B-4,888,398 décrit des polymères à base de polyglutamate ou polyaspartate, et éventuellement polyleucine, avec des groupements pendants de type alkyloxycarbonylméthyle, placés de façon aléatoire sur la chaîne polyaminoacide. Ces polyaminoacides, greffés par des groupements latéraux e.g. méthoxycarbonylméthyle, sont 30 utilisables sous forme d'implants biodégradables contenant un PA à libération prolongée.

35 Le brevet US-B-5,904,936 décrit des nanoparticules obtenues à partir d'un polymère bloc polyleucine-polyglutamate, aptes à former des suspensions colloïdales stables et capables de s'associer spontanément avec des protéines biologiquement actives sans les dénaturer. Ces dernières peuvent ensuite être libérées in vivo de manière contrôlée, sur une longue période.

Le brevet US-B-5,449,513 décrit des copolymères bloc amphiphiles comprenant un bloc polyoxyéthylène et un bloc polyaminoacide, par exemple poly(béta-benzyl-L-aspartate). Ces polymères polyoxyéthylène-polybenzylaspartate forment des micelles qui sont aptes à encapsuler des molécules actives hydrophobes telles que l'adryamicine ou 5 l'indométhacine.

La demande de brevet WO-A-99/61512 décrit des polylysines et des polyornithines fonctionnalisées par un groupe hydrophobe (acide palmitique relié à la polylysine ou ornithine) et un groupe hydrophile (polyoxyéthylène). Ces polymères, par 10 exemple la polylysine greffée avec des chaînes polyoxyéthylène et palmitoyle forment en présence de cholestérol des vésicules capables d'encapsuler la doxorubicine ou l'ADN. Ces polymères à base de polylysines sont cationiques en milieu physiologique.

La demande de brevet WO-A-00/30618, de la demanderesse, décrit des polymères 15 blocs ou aléatoires poly(glutamate de sodium)-poly(glutamate de méthyle, d'éthyle, d'hexa-décyle ou de dodécyle), aptes à former des suspensions colloïdales stables et capables de s'associer spontanément avec des protéines biologiquement actives sans les dénaturer. Ces dernières peuvent ensuite être libérées *in vivo* de manière contrôlée, sur une longue période. Ces copolyaminoacides amphiphiles sont modifiés par la présence 20 d'une chaîne latérale alkyle hydrophobe. Ces groupements alkyles sont greffés de façon covalente sur le polymère *via* une fonction ester. Ces polymères sont anioniques en milieu physiologique.

La demande de brevet français non publiée FR N°02/07008 du 7/06/2002, décrit un 25 polyglutamate portant des greffons à base d'alpha-tocophérol lié à un espaceur formé par un à quatre restes "acide aminé" et par exemple un reste leucine .

Ainsi, même s'il existe de très nombreuses solutions techniques dans l'art antérieur, développées et proposées pour la vectorisation des principes actifs médicamenteux, la 30 réponse à l'ensemble des exigences est difficile à obtenir et demeure non satisfaisante. Plus spécifiquement, la conception d'un polyaminoacide greffé par des groupements hydrophobes, capable de former une suspension aqueuse colloïdale stable de particules de vectorisation propres à s'associer réversiblement à des principes actifs et peu onéreuse, est perfectible.

35

Dans ce contexte, l'un des objectifs essentiels de la présente invention est de fournir une nouvelle famille de polymères anioniques à pH physiologique animal, à base de polyglutamate et polyaspartate, qui représentent un perfectionnement par rapport à ceux

décris dans la demande de brevet WO-A-00/30618, notamment en termes de stabilité et de capacité d'absorption d'une protéine.

Un autre objectif essentiel de la présente invention est que ces polymères soient 5 aptes à être utilisés pour la vectorisation de PA et permettent de satisfaire de manière optimale à toutes les spécifications du cahier des charges, à savoir notamment :

- capacité :
  - à former aisément et économiquement des suspensions colloïdales aqueuses stables,
  - à s'associer facilement avec de nombreux principes actifs,
  - et à libérer ces principes actifs *in vivo*,
- biocompatibilité,
- biodégradabilité,
- stabilité à l'hydrolyse.

15

Cet objectif, parmi d'autres, est atteint par la présente invention qui concerne tout d'abord un polyaminoacide comprenant des unités aspartiques et/ou des unités glutamiques, dont certaines sont porteuses d'au moins un greffon, caractérisé en ce qu'au moins l'un de ces greffons :

- 20 ▪ est relié à une unité aspartique ou glutamique de la chaîne principale, par l'intermédiaire d'un espaceur comprenant un ou plusieurs (oligo)aminoacide(s), formé(s) par une ou plusieurs unités "acides aminés" choisies parmi les unités "acides aminés" ayant un groupement alkyle ou aryle en alpha, de préférence parmi les unités "acides aminés" comprises dans le groupe comportant l'alanine, la valine, la leucine, l'isoleucine et la phénylalanine,
- 25 ▪ et comprend au moins un groupement hydrophobe :
  - ♦ comportant au moins 6 atomes de carbone, de préférence de 6 à 30 atomes (par exemple de 8-30 atomes de carbone),
  - ♦ différent de l'alpha-tocophérol,
  - 30 ▪ et relié à l'espacer par l'intermédiaire d'au moins une liaison ester.

Les inventeurs ont perfectionné les polyaminoacides connus en trouvant, de façon surprenante et inattendue, que le greffage sur ces polyaminoacides de greffons comprenant des groupements hydrophobes issus de précurseurs de type alcool sont liés au polymère 35 via un espaceur "(oligo)acide aminé" ayant une substitution en position alpha, la stabilité de la liaison ester en milieu aqueux est grandement améliorée.

Il est du mérite de la demanderesse d'avoir eu l'idée de combiner, de façon tout à fait judicieuse et avantageuse, des polyaminoacides particuliers polyAsp et/ou polyGlu, biodégradables et anioniques avec des greffons reliés au squelette polyAsp et/ou polyGlu par un "acide aminé" ayant un groupement alkyle ou aryle en alpha.

5

Ces nouveaux (co)polymères se sont avérés être particulièrement bien adaptés pour la vectorisation des protéines.

Conformément à une forme préférée de réalisation de l'invention, chaque greffon 10 est relié à une unité aspartique ou glutamique de la chaîne principale par l'intermédiaire d'une liaison amide.

Au sens de l'invention le terme «*polyaminoacide*» couvre aussi bien les oligoaminoacides comprenant de 2 à 20 unités "acide aminé" que les polyaminoacides 15 comprenant plus de 20 unités "acide aminé".

Avantageusement, l'oligoaminoacide ou les (oligo)aminoacides de tout ou partie des greffons est (sont) constitué(s) (chacun) par des unités "acide aminé" identiques entre elles.

20

Ces polymères présentent des propriétés surprenantes d'association et/ou d'encapsulation avec un ou plusieurs principes actifs, en comparaison avec des produits analogues. De plus, ils sont facilement dégradés, en présence d'enzymes, en catabolites/métabolites non toxiques (acides aminés).

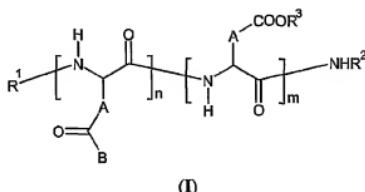
25 Au sens de l'invention et dans tout le présent exposé, les termes "association" ou "associer" employés pour qualifier les relations entre un ou plusieurs principes actifs et les polyaminoacides, signifient en particulier que le ou les principes actifs sont liés au(x) polyaminoacide(s) notamment par une liaison faible, par exemple par liaison ionique et/ou par contact hydrophobe, et/ou sont encapsulés par le ou les polyaminoacides.

30

De préférence, les polyaminoacides selon la présente invention sont des oligomères ou des homopolymères comprenant des unités récurrentes acide glutamique ou aspartique ou des copolymères comprenant un mélange de ces deux types d'unités "acide aminé". Les unités considérées dans ces polymères sont des acides aminés ayant la configuration D ou 35 L ou D/L et sont liées par leurs positions alpha ou gamma pour l'unité glutamate ou glutamique et alpha ou bêta pour l'unité aspartique ou aspartate.

Les unités "acide aminé" préférées de la chaîne polyaminoacide principale sont celles ayant la configuration L et une liaison de type alpha.

De manière plus préférée encore, les polyaminoacides selon l'invention répondent 5 à la formule générale (I) suivante :



10

dans laquelle :

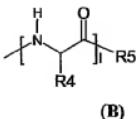
15

20

25

30

- R<sup>1</sup> représente un H, un groupe acyle linéaire en C2 à C10 ou ramifié en C3 à C10, ou un pyroglutamate ;
- R<sup>2</sup> représente un H, un alkyle linéaire en C2 à C10 ou ramifié en C3 à C10, benzyle, une unité "acide aminé" terminale ;
- R<sup>3</sup> est un H ou une entité cationique, de préférence sélectionnée dans le groupe comprenant :
  - les cations métalliques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant : le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium ;
  - les cations organiques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant :
    - les cations à base d'amine,
    - les cations à base d'oligoamine,
    - les cations à base de polyamine (la polyéthylèneimine étant particulièrement préférée),
    - les cations à base d'acide(s) aminé(s) avantageusement choisis dans la classe comprenant les cations à base de lysine ou d'arginine,
    - ou les polyaminoacides cationiques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant la polylysine ou l'oligolysine;
  - les n groupements B représentent chacun indépendamment les uns des autres un radical monovalent de formule suivante :



dans laquelle :

- $R^4$  représente un méthyle(alanine), isopropyle (valine), isobutyle (leucine), secbutyle (isoleucine), benzyle (phenylalanine), les acides aminés mentionnés entre parenthèses sont ceux qui correspondent à l'unité "acide aminé" formée lorsque  $R^4$  représente l'alkyle considéré ;
- $R^5$  représente un groupement hydrophobe comportant 6 à 30 (par exemple 8 à 30) atomes de carbone et de préférence lié au polymère (plus précisément à l'espaceur  $[-NH-CHR4-CO-]_l$  par l'intermédiaire d'une fonction ester) ;
- $l$  varie de 1 à 6 ;
- $A$  représente indépendamment un  $-CH_2-$  (unité aspartique) ou  $-CH_2-CH_2-$  (unité glutamique) ;
- $n/(n+m)$  est défini comme le taux de greffage molaire et varie de 0,5 à 100 % molaire ;
- $n+m$  varie de 3 à 1000, de préférence entre 30 et 300.

De manière plus préférée encore, on utilise comme espaceur dans tout ou partie des greffons, d'un seul acide aminé ( $l=1$  dans la formule B supra) fonctionnalisé par un groupement hydrophobe. Il a pu être constaté que cela permet notamment d'améliorer les taux d'association des polyaminoacides avec des principes actifs.

Selon une caractéristique remarquable de l'invention, tout ou partie des groupements hydrophobes  $R^5$  des greffons sont choisis de façon indépendante dans le groupe de radicaux comportant :

- un alcoxy linéaire ou ramifié comportant de 6 à 30 atomes de carbone et pouvant comporter au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S) et/ou au moins une insaturation,
- un alcoxy comportant 6 à 30 atomes de carbone et ayant un ou plusieurs carbocycles annelés et contenant éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S),

- un alcoxyaryle ou un aryloxyalkyle de 7 à 30 atomes de carbone et pouvant comporter au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S).

Plus avantageusement encore, le groupement hydrophobe du greffon est issu d'un précurseur alcoolique est choisi dans le groupe comprenant: l'octanol, le dodécanol, le tétradécanol, l'hexadécanol, l'octadécanol, l'oleylalcool ou le cholestérol.

S'agissant de l'unité "acide aminé" du greffon, on retiendra plus spécialement dans le cadre de l'invention une unité "acide aminé" issue du groupe comprenant : la L-leucine, la L-valine ou la L-phénylalanine.

Selon un premier mode de réalisation de l'invention, les chaînes principales des polyaminoacides sont des homopolymères d'alpha-L-glutamate ou d'alpha-L-glutamique.

Selon un deuxième mode de réalisation de l'invention, les chaînes principales des polyaminoacides sont des homopolymères d'alpha-L-aspartate ou d'alpha-L-aspartique.

Selon un troisième mode de réalisation de l'invention, les chaînes principales des polyaminoacides sont des copolymères d'alpha-L-aspartate/alpha-L-glutamate ou d'alpha-L-aspartique/alpha-L-glutamique.

Avantageusement, la distribution des unités aspartiques et/ou glutamiques de la chaîne polyaminoacide principale est telle que les polymères ainsi constitués sont soit aléatoires, soit de type bloc, soit de type multibloc.

Selon un autre mode de définition, les polyaminoacides selon l'invention ont une masse molaire qui se situe entre 2 000 et 100 000 g/mole, et de préférence entre 5 000 et 40 000 g/mole.

Il est par ailleurs préférable que le taux de greffage molaire en motif hydrophobe des polyaminoacides selon l'invention, soit compris entre 2 et 70 %, et de préférence entre 5 et 40 %.

De manière remarquable, les polyaminoacides de l'invention sont susceptibles d'être utilisés de plusieurs façons selon le taux de greffage. Les méthodes de mise en forme d'un polymère pour l'encapsulation d'un principe actif sous les diverses formes

visées par l'invention sont connues de l'homme de l'art. Pour plus de détails, on peut se référer, par exemple à ces quelques références particulièrement pertinentes :

*"Microspheres, Microcapsules and Liposomes ; vol 1. Preparation and chemical applications"* Ed. R. Arshady, Citus Books 1999. ISBN : 0-9532187-1-6.

*"Sustained-Release Injectable Products"* Ed. J. Senior et M. Radomsky, Interpharm Press 2000. ISBN : 1-57491-101-5.

*"Colloidal Drug Delivery Systems"* Ed. J. Kreuter, Marcel Dekker, Inc. 1994. ISBN : 0-8247-9214-9.

*"Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology"* Ed. D.L. Wise, Marcel Dekker, Inc. 2000. ISBN : 0-8247-0369-3.

Les polyaminoacides sont en outre extrêmement intéressants, du fait qu'à un taux de greffage relativement faible de l'ordre de 3 à 30, ils se dispersent dans l'eau à pH 7,4 (par exemple avec un tampon phosphate) pour donner des solutions ou des suspensions colloïdales ou des gels, en fonction de la concentration de polymère et du taux de greffage. De plus, les polyaminoacides (sous forme de particules ou non), peuvent encapsuler ou s'associer aisément avec des principes actifs tels que des protéines, peptides ou petites molécules. La mise en forme préférée est celle décrite dans la demande de brevet WO-A-00/30618 de la demanderesse et qui consiste à disperser le polymère dans l'eau et à incuber la solution en présence d'un PA. Cette solution colloïdale de particules de vectorisation constituées des polyaminoacides selon l'invention, peut ensuite être filtrée sous 0,2 µm puis directement injectée à un patient.

Cette forme particulière selon la demande de brevet WO-A-00/30618 est notamment envisageable en l'espèce, au-delà de 30 % de taux de greffage et selon le greffon choisi. Le polymère peut alors former des microparticules capables d'associer ou d'encapsuler des PA. Dans ce contexte, la mise en forme des microparticules peut se faire en co-solubilisant le PA et le polymère dans un solvant organique approprié puis le mélange précipité dans l'eau. Les particules sont ensuite récupérées par filtration et peuvent ensuite être utilisées pour une administration par voie orale (sous forme de gélule, sous forme compactée et/ou enrobée ou bien encore sous forme dispersée dans une huile) ou par voie parentérale après redispersion dans l'eau.

A des taux supérieurs à 50 % de greffage, la redispersion du polymère en phase aqueuse devient plus difficile du fait de la quantité plus faible des fonctions carboxylate ionisables et le polymère précipite. Dans ce cas, le polymère peut être solubilisé dans un solvant biocompatible tel que la N-méthylpyrrolidone ou une huile appropriée telle que le Mygliol® puis injecté en intramusculaire ou sous-cutanée ou dans une tumeur. La

diffusion du solvant ou de l'huile conduit à la précipitation du polymère sur le site d'injection et forme ainsi un dépôt. Ces dépôts assurent ensuite une libération contrôlée par diffusion et/ou par érosion et/ou par dégradation hydrolytique ou enzymatique du polymère.

Indépendamment du fait que la forme microparticulaire du polyaminoacide selon l'invention est préférée, les polymères de l'invention, sous forme neutre ou ionisée, sont de façon plus générale, utilisables seuls ou dans une composition liquide, solide ou gel et dans un milieu aqueux ou organique.

Il convient de comprendre que le polymère à base de polyaminoacides contient des fonctions carboxyliques qui sont soit neutres (forme COOH), soit ionisées (anion COO<sup>-</sup>), selon le pH et la composition. Pour cette raison, la solubilité dans une phase aqueuse est directement fonction du taux de COOH libre du polymère (non greffé par le motif hydrophobe) et du pH. En solution aqueuse, le contre-cation peut être un cation métallique tel que le sodium, le calcium ou le magnésium, ou un cation organique tel que la triéthanolamine, la tris(hydroxyméthyl)-aminométhane ou une polyamine tel que la polyéthylèneimine.

Les polymères de l'invention sont par exemple obtenus par des méthodes connues de l'homme de l'art. Les polyaminoacides statistiques peuvent être obtenus par greffage du grefion hydrophobe, préalablement fonctionnalisé par l'acide aminé espaceur, directement sur le polymère par une réaction classique de couplage. Les polyaminoacides blocs ou multiblocs peuvent être obtenus par polymérisation séquentielle des anhydrides de N-carboxy-aminoacides (NCA) correspondants.

On prépare par exemple un polyaminoacide, homopolyglutamate, homopoly-aspartate ou un copolymère glutamate/aspartate, bloc, multibloc ou aléatoire selon des méthodes classiques.

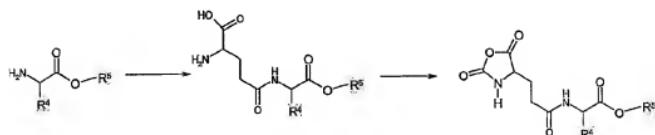
Pour l'obtention de polyaminoacide de type alpha, la technique la plus courante est basée sur la polymérisation d'anhydrides de N-carboxy-aminoacides (NCA), décrites, par exemple, dans l'article "*Biopolymers*, 1976, 15, 1869 et dans l'ouvrage de H.R. Kricheldorf "*alpha-Aminoacid-N-carboxy Anhydride and related Heterocycles*" Springer Verlag (1987). Les dérivés d'NCA sont de préférence des dérivés NCA-O-Me, NCA-O- et/ou NCA-O-Bz (Me = Méthyl, Et = Ethyle et Bz = Benzyle). Les polymères sont ensuite hydrolysés dans des conditions appropriées pour obtenir le polymère sous sa forme acide. Ces méthodes sont inspirées de la description donnée dans le brevet FR-A-2 801 226 de la demanderesse. Un certain nombre de polymères utilisables selon l'invention, par exemple,

de type poly(alpha-L-aspartique), poly(alpha-L-glutamique), poly(alpha-D-glutamique) et poly(gamma-L-glutamique) de masses variables sont disponibles commercialement. Le polyaspartique de type alpha-beta est obtenu par condensation de l'acide aspartique (pour obtenir un polysuccinimide) suivie d'une hydrolyse basique (cf. Tomida et al. Polymer 1997, 38, 4733-36).

Le couplage du greffon avec une fonction acide du polymère est réalisé aisément par réaction du polyaminoacide en présence d'un carbodiimide comme agent de couplage et optionnellement, un catalyseur tel que le 4-diméthylaminopyridine et dans un solvant approprié tel que la diméthylformamide (DMF), la N-méthyl pyrrolidone (NMP) ou la diméthylsulfoxyde (DMSO). Le carbodiimide est par exemple, le dicyclohexylcarbodiimide ou le diisopropylcarbodiimide. Le taux de greffage est contrôlé chimiquement par la stoechiométrie des constituants et réactifs ou le temps de réaction. Les greffons hydrophobes fonctionnalisés par un acide aminé sont obtenus par couplage peptidique classique ou par condensation directe par catalyse acide. Ces techniques sont bien connues de l'homme de l'art.



Pour la synthèse de copolymère bloc ou multibloc, on utilise des dérivés NCA préalablement synthétisé avec le greffon hydrophobe. Le schéma de synthèse est le suivant.



Préférentiellement, le dérivé NCA-hydrophobe est copolymérisé avec le NCA-O-Benzyl puis on enlève par hydrolyse sélectivement les groupements benzyliques.

Selon un autre de ses aspects, l'invention vise une composition pharmaceutique, cosmétique, diététique ou phytosanitaire comprenant au moins un polyaminoacide tel que défini ci-dessus et éventuellement au moins un principe actif, qui peut être thérapeutique, cosmétique, diététique ou phytosanitaire.

Suivant une disposition intéressante de l'invention, le principe actif est associé au(x) polyaminoacide(s) par une ou plusieurs liaisons autre(s) qu'une (ou que des) liaison(s) chimique(s) covalente(s).

Les techniques d'association d'un ou de plusieurs PA aux polyaminoacides greffés selon l'invention, sont décrites notamment dans la demande de brevet WO-A-00/30618. Elles consistent à incorporer au moins un principe actif dans le milieu liquide contenant des particules PV, de manière à obtenir une suspension colloïdale de PV chargées en ou associées avec un ou plusieurs principe(s) actif(s) PA. Cette incorporation, qui conduit à un piégeage de PA par les PV, peut être réalisée de la manière suivante :

- mise en solution aqueuse de PA, puis ajout des PV, soit sous forme de suspension colloïdale, soit sous forme de PV isolées (lyophilisat ou précipitat) ;
- ou ajout de PA, soit en solution, soit à l'état pur ou préformulé, à une suspension colloïdale de particules PV, éventuellement préparée extemporanément par la dispersion de PV sèches dans un solvant approprié, tel que l'eau.

De préférence, le principe actif est une protéine, une glycoprotéine, une protéine liée à une ou plusieurs chaînes polyalkylèneglycol (de préférence PolyéthylèneGlycol (PEG) : "protéine-PEGylée"), un polysaccharide, un liposaccharide, un oligonucléotide, un polynucléotide ou un peptide.

Selon une variante, le principe actif est une "petite" molécule organique hydrophobe, hydrophile ou amphiphile.

Au sens du présent exposé, une "petite" molécule est notamment une petite molécule non protéinique.

Comme exemples de PA susceptibles d'être associés aux polyaminoacides selon l'invention, qu'ils soient ou non sous forme de (nano ou micro)particules, on peut citer :

- les protéines telles que l'insuline, les interférons, les hormones de croissance, les interleukines, l'érythropoïétine ou les cytokines ;
- les peptides telles que la leuproliide ou la cyclosporine ;
- les petites molécules telles que celles appartenant à la famille des anthracyclines, des taxoïdes ou des camptothécinés ;
- et leurs mélanges.

Selon un mode de réalisation, la composition de l'invention est sous forme d'un gel, d'une solution, d'une suspension, d'une émulsion, de micelles, de nanoparticules, de microparticules, d'un implant, d'une poudre ou d'un film.

Suivant l'une de ses formes particulièrement préférées, la composition, chargée ou non en principe actif(s), est une suspension colloïdale stable de nanoparticules et/ou de microparticules et/ou de micelles de polyaminoacides, dans une phase aqueuse.

Selon une autre mode de réalisation, la composition de l'invention est sous forme de solution dans un solvant biocompatible et peut être injectée par voie sous-cutanée, intramusculaire ou dans une tumeur.

La composition selon l'invention, dès lors qu'elle est pharmaceutique, peut être administrée par voie orale, parentérale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale, intracérébrale ou buccale.

Il est également envisageable que la composition soit sous forme de solution dans un solvant biocompatible, susceptible d'être injectée en sous-cutané, intramusculaire ou dans une tumeur.

Selon une autre variante, la composition selon l'invention est formulée de telle sorte qu'elle soit apte à former un dépôt sur le site d'injection.

L'invention vise aussi des compositions qui comprennent des polyaminoacides selon l'invention et des principes actifs et qui sont susceptibles d'être utilisées pour la préparation :

- de médicaments, en particulier pour administration orale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale ou intracérébrale, les principes actifs de ces médicaments pouvant être, notamment, des protéines, des glycoprotéines, des protéines liées à une ou plusieurs chaînes polyalkylèneglycol {par exemple PolyÉthylèneGlycol (PEG), on parle alors de protéines "PEGylées"}, des peptides, des polysaccharides, des liposaccharides, des oligonucléotides, des polynucléotides et des petites molécules organiques hydrophobes, hydrophiles ou amphiphiles ;
- et/ou des nutriments ;
- et/ou de produits cosmétiques ou phytosanitaires.

Selon encore un autre de ses aspects, l'invention vise un procédé de préparation:

- de médicaments, en particulier pour administration orale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale ou intracérébrale, les principes actifs de ces médicaments pouvant être, notamment, des protéines, des glycoprotéines, des protéines liées à une ou plusieurs chaînes polyalkylèneglycol (par exemple PolyÉthylèneGlycol (PEG), on parle alors de protéines "PEGylées"), des peptides, des polysaccharides, des liposaccharides, des oligonucléotides, des polynucléotides et des petites molécules organiques hydrophobes, hydrophiles ou amphiphiles ;
- et/ou des nutriments ;
- et/ou de produits cosmétiques ou phytosanitaires ;

ce procédé étant caractérisé en ce qu'il consiste essentiellement à mettre en œuvre au moins un polyaminoacide tel que défini ci-dessus et/ou la composition elle aussi décrite supra.

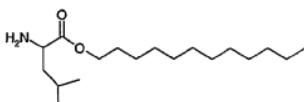
L'invention concerne également une méthode de traitement thérapeutique consistant essentiellement à administrer la composition telle que décrite dans le présent exposé, par voie orale, parentérale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale, intracérébrale ou buccale.

Suivant une variante particulière de l'invention, cette méthode de traitement thérapeutique consiste essentiellement à administrer la composition telle que décrite supra sous forme de solution dans un solvant biocompatible puis de l'injecter en sous-cutané, intramusculaire ou dans une tumeur, de préférence de manière à ce qu'elle forme un dépôt sur le site d'injection.

L'invention sera mieux comprise et ses avantages et variantes de mise en œuvre ressortiront bien des exemples qui suivent et qui décrivent la synthèse des polyaminoacides greffés par un groupement hydrophobe, leur transformation en système de vectorisation de PA (suspension colloïdale aqueuse stable) et la démonstration de la capacité d'un tel système de s'associer à une protéine pour former des compositions pharmaceutiques.

**Exemple 1 : Préparation du polymère P1***Synthèse d'un polyglutamate greffé avec un greffon LeuOC12*

## 1/ Structure du greffon :



Ce produit est synthétisé à partir de la L-leucine et de la dodécanol par condensation en présence d'un acide, selon un procédé décrit dans le brevet US-A-4,826,818.

## 2/ Synthèse du polymère :

Le polymère alpha-L-polyglutamique (de masse équivalente à environ 12 000 g/mole par rapport à un standard en polyoxyéthylène) est obtenu par polymérisation de monomères constitués par des dérivés N-CarboxyAnhydride de glutamate de méthyle : NCAGluOMe. Cette polymérisation est suivie d'une hydrolyse comme décrit dans la demande de brevet FR-A-2 801 226. 18 g du polymère est ensuite mis en solution dans 360 ml de DiMéthylFormamide (DMF) en chauffant à 80°C pendant 2 heures. Une fois le polymère solubilisé, on laisse revenir la température à 25 °C et on ajoute successivement 5,0 g du greffon LeuOC12 préalablement solubilisé dans 9 ml de DMF, 0,5 g de 4-diméthylaminopyridine préalablement solubilisé dans 5 ml de DMF et 3,16 g de diisopropylcarbodiimide. Après 6 heures à 25 °C sous agitation, le milieu réactionnel est versé dans 720 ml d'eau contenant 15 % de chlorure de sodium et d'acide chlorhydrique (pH 2). Le polymère précipité est ensuite récupéré par filtration, lavé par de l'acide chlorhydrique 0,1 N puis par de l'éther diisopropylique. Le polymère est ensuite séché à l'étuve sous vide à 40 °C. On obtient un rendement de l'ordre de 90 %. Le taux de greffage estimé par RMN du proton est d'environ 11,6 %.

**Exemple 2 : Préparation des polymères P2 à P5, C1 et C2**

Les polymères P2 à P5 et les exemples comparatifs C1 et C2 sont synthétisés selon le même protocole que pour le polymère P1. Pour le greffon ValChol, nous avons réalisé un couplage du cholestérol avec de la Bocaline en présence du diisopropylcarbodiimide

suivi de la déprotection de l'amine en milieu acide (voir par exemple l'ouvrage « Principles of peptide synthesis » par Bodanszky, Springer-Verlag 1984).

**Exemple 3 : Caractéristiques des polymères**

**Tableau 1**

| Polymerc | Greffon                              | Structure du greffon[1] | % molaire du greffon [2] | Mn g/mole [3] |
|----------|--------------------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------|
| P1       | L-LeuOC12                            |                         | 11,6                     | 13500         |
| P2       | L-LeuOC8                             |                         | 14,7                     | 14000         |
| P3       | L-ValOC12                            |                         | 11,8                     | 15700         |
| P4       | L-PheOC12                            |                         | 10,4                     | 11000         |
| P5       | L-ValCHOL                            |                         | 5,5                      | 13300         |
| C1       | OC12                                 |                         | 15,3                     | 10500         |
| C2       | (L-Leu) <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> |                         | 21,0                     | -             |

[1] La liaison en pointillé représente la liaison au polymère.

[2] Le % de greffage molaire est estimé par la RMN du proton du polymère solubilisé dans l'acide trifluoroacétique deutérié.

[3] Mn est la masse molaire en nombre mesurée par la chromatographie d'exclusion stérique en éluant avec un mélange de tampon PBS (pH 7,4) et d'acétonitrile et est donnée en référence à un polyoxyéthylène utilisé comme étalon.

**Exemple 4 : Etude d'association avec l'insuline**

On prépare une solution aqueuse contenant 10 mg de polymère par millilitre à pH 7,4 et 200 UI d'insuline (7,4 mg). On laisse incuber les solutions pendant deux heures à température ambiante et on sépare l'insuline libre de l'insuline associée par ultrafiltration (seuil à 100 KDa, 15 minutes sous 10000G à 18 °C). L'insuline libre récupérée dans le filtrat est ensuite dosée par CLHP (Chromatographie Liquide Haute Performance) et l'on déduit la quantité d'insuline associée. Les résultats sont donnés dans le tableau 2 ci-dessous.

**Tableau 2**

| Polymère | % association |
|----------|---------------|
| P1       | 97 %          |
| P2       | 92 %          |
| P3       | 97 %          |
| P5       | 98 %          |
| C1       | 75 %          |
| C2       | 55 %          |

Les résultats démontrent que les polymères de l'invention présentent des taux d'association avec l'insuline supérieur à ceux n'ayant pas d'espaceur "acide aminé" (C1) ou ayant une séquence d'acide aminé hydrophobe mais pas de groupement hydrophobe de type alkyle linéaire ou polycyclique (C2).

**Exemple 5 : Etude de la stabilité des polymères en milieu aqueux.**

Les polymères sont solubilisés à 20 mg/mL d'eau en ajustant le pH à 6,0 et les solutions limpides sont ensuite placées dans des étuves thermostatés à 25 ou 37°C pendant une semaine. La gamme de pH utile dans les applications visées est souvent comprise entre 6 et 7,4. Nous avons choisi un pH de 6 pour cette étude afin d'accélérer la cinétique de dégradation. L'analyse des polymères par diverses techniques montre que la seule voie de dégradation du polymère dans ces conditions, est l'hydrolyse des greffons esters. Le taux d'hydrolyse des polymères P1, P3 et C1 en fonction du temps est donné dans le tableau 3 suivant.

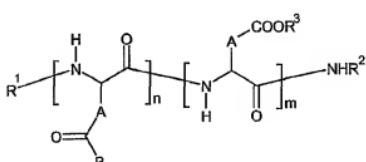
Tableau 3

| Polymère | % d'hydrolyse<br>1 semaine à 25°C | % d'hydrolyse<br>1 semaine à 37 °C |
|----------|-----------------------------------|------------------------------------|
| P1       | 0,94%                             | 1,91%                              |
| P3       | 0,01%                             | 0,30%                              |
| C1       | 1,63%                             | 4,31 %                             |

Ces résultats montrent que P1 et P3, en plus d'avoir une capacité d'adsorption plus élevée avec l'insuline, sont plus stables à l'hydrolyse.

## REVENDICATIONS

- Polyaminoacide comprenant des unités aspartiques et/ou des unités glutamiques, dont certaines sont porteuses d'au moins un greffon, caractérisé en ce qu'au moins l'un de ces greffons :
  - est relié à une unité aspartique ou glutamique de la chaîne principale, par l'intermédiaire d'un espaceur comprenant un ou plusieurs (oligo)aminoacide(s), formé(s) par une ou plusieurs unités "acides aminés" choisies parmi les unités "acides aminés" ayant un groupement alkyle ou aryle en alpha, de préférence parmi les unités "acides aminés" comprises dans le groupe comportant l'alanine, la valine, la leucine, l'isoleucine et la phénylalanine,
  - et comprend au moins un groupement hydrophobe :
    - comportant au moins 6 atomes de carbone, de préférence de 6 à 30 atomes,
    - différent de l'alpha-tocophérol,
    - et relié à l'espaceur par l'intermédiaire d'au moins une liaison ester.
- Polyaminoacide selon la revendication 1, caractérisé en ce que le groupement hydrophobe du greffon comporte de 6 à 30 (par exemple 8 à 30) atomes de carbone.
- Polyaminoacide selon la revendication 1 ou 2, caractérisé par la formule générale (I) suivante :

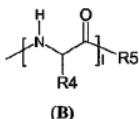


(I)

dans laquelle :

- R<sup>1</sup> représente un H, un groupe acyle linéaire en C2 à C10 ou ramifié en C3 à C10, ou un pyroglutamate ;
- R<sup>2</sup> représente un H, un alkyle linéaire en C2 à C10 ou ramifié en C3 à C10, benzyle, une unité "acide aminé" terminale ;
- R<sup>3</sup> est un H ou une entité cationique, de préférence sélectionnée dans le groupe comprenant :

- les cations métalliques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant : le sodium, le potassium le calcium, le magnésium,
- les cations organiques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant :
  - les cations à base d'amine,
  - les cations à base d'oligoamine,
  - les cations à base de polyamine (la polyéthylèneimine étant particulièrement préférée),
  - les cations à base d'acide(s) aminé(s) avantageusement choisis dans la classe comprenant les cations à base de lysine ou d'arginine,
- ou les polyaminoacides cationiques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant la polylysine ou l'oligolysine ;
- les  $n$  groupements B représentent chacun indépendamment les uns des autres un radical monovalent de formule suivante :



dans laquelle :

- R4 représente un méthyle(alanine), isopropyle (valine), isobutyle (leucine), secbutyle (isoleucine), benzyle (phénylalanine) ;
- R5 représente un groupement hydrophobe comportant de 6 à 30 atomes de carbone ;
- l varie de 1 à 6 ;
- $\Delta$  représente indépendamment un  $-\text{CH}_2-$  (unité aspartique) ou  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$  (unité glutamique) ;
- $n/(n+m)$  est défini comme le taux de greffage molaire et varie de 0,5 à 100 % molaire ;
- $n + m$  varie de 3 à 1000, de préférence entre 30 et 300.

4. Polyaminoacide selon la revendication 2 ou 3, caractérisé en ce que tout ou partie des groupements hydrophobes  $R^5$  sont choisis de façon indépendante dans le groupe de radicaux comportant :

- un alcooxy linéaire ou ramifié comportant de 6 à 30 atomes de carbone et pouvant comporter au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S) et/ou au moins une insaturation,
- un alcooxy comportant 6 à 30 atomes de carbone et ayant un ou plusieurs carbocycles annelés et contenant éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S),
- un alcooxyaryle ou un aryloxyalkyle de 7 à 30 atomes de carbone et pouvant comporter au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S).

5. Polyaminoacide selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que le groupement hydrophobe du greffon est issu d'un précurseur alcoolique choisi dans le groupe comprenant: l'octanol, le dodécanol, le tétradécanol, l'hexadécanol, l'octadécanol, l'oleylalcool ou le cholestérol.

6. Polyaminoacide selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que l'unité "acide aminé" du greffon est choisie dans le groupe comprenant : la L-leucine, la L-valine ou la L-phénylalanine et leurs mélanges.

7. Polyaminoacide selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que sa chaîne principale est constituée d'un homopolymère d'alpha-L-glutamate ou d'alpha-L-glutamique.

8. Polyaminoacide selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que sa chaîne principale est constituée d'un homopolymère d'alpha-L-aspartate ou d'alpha-L-aspartique.

9. Polyaminoacide selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que sa chaîne principale est constituée d'un copolymère d'alpha-L-aspartate/alpha-L-glutamate ou d'alpha-L-aspartique/alpha-L-glutamique.

10. Polyaminoacide selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que la distribution des unités aspartiques et/ou glutamiques porteuses de greffons est telle que les polymères ainsi constitués sont soit aléatoires, soit de type bloc, soit de type multibloc.

11. Polyaminoacide selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, caractérisé en ce que sa masse molaire se situe entre 2 000 et 100 000 g/mole, et de préférence entre 5 000 et 40 000 g/mole.

12. Polyaminoacide selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que le taux de greffage molaire se situe entre 2 et 70 %, et de préférence entre 5 et 40 %.

13. Composition pharmaceutique, cosmétique, diététique ou phytosanitaire comprenant au moins un polyaminoacide selon l'une quelconque des revendications 1 à 12.

14. Composition selon la revendication 13, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un principe actif.

15. Composition selon la revendication 14, caractérisée en ce que le principe actif est associé au(x) polyaminoacide(s) par une ou plusieurs liaisons autre(s) qu'une (ou que des) liaison(s) chimique(s) covalente(s).

16. Composition selon la revendication 14 ou 15, caractérisée en ce que le principe actif est une protéine, une glycoprotéine, une protéine liée à une ou plusieurs chaînes polyalkyléneglycol {de préférence PolyÉthylèneGlycol (PEG) : "protéine-PEGylée"}, un polysaccharide, un liposaccharide, un oligonucléotide, un polynucléotide ou un peptide.

17. Composition selon la revendication 14 ou 15, caractérisée en ce que le principe actif est une molécule organique hydrophobe, hydrophile ou amphiphile.

18. Composition selon l'une quelconque des revendications 13 à 17, caractérisée en ce qu'elle est une suspension colloïdale de nanoparticules et/ou de microparticules et/ou de micelles du ou des polyaminoacides, dans une phase aqueuse.

19. Composition selon l'une quelconque des revendications 13 à 18, caractérisée en ce qu'elle est sous forme d'une solution, d'un gel, d'une suspension, d'une émulsion, de micelles, de nanoparticules, de microparticules, d'un implant, d'une poudre ou d'un film.

20. Composition selon l'une quelconque des revendications 13 à 19, caractérisée en ce qu'elle peut être administrée par voie orale, parentérale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale, intracérébrale ou buccale.

21. Composition selon l'une quelconque des revendications 13 à 20, caractérisée en ce qu'elle est sous forme de solution dans un solvant biocompatible et en ce qu'elle peut être injectée par voie sous-cutanée, intramusculaire ou dans une tumeur.

22. Composition selon l'une quelconque des revendications 13 à 21, caractérisée en ce qu'elle est injectable et en ce qu'elle est apte à former un dépôt sur le site d'injection.

23. Composition selon l'une quelconque des revendications 13 à 22, caractérisée en ce qu'elle est destinée à la préparation :

- de médicaments, en particulier pour administration orale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale ou intracérébrale, les principes actifs de ces médicaments pouvant être, notamment, des protéines, des glycoprotéines, des protéines liées à une ou plusieurs chaînes polyalkylèneglycol {par exemple PolyÉthylène-Glycol (PEG), on parle alors de protéines "PEGylées"}, des peptides, des polysaccharides, des liposaccharides, des oligonucléotides, des polynucléotides et des petites molécules organiques hydrophobes, hydrophiles ou amphiphiles ;
- et/ou des nutriments ;
- et/ou de produits cosmétiques ou phytosanitaires.

24. Procédé de préparation :

- de médicaments, en particulier pour administration orale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale ou intracérébrale, les principes actifs de ces médicaments pouvant être, notamment, des protéines, des glycoprotéines, des protéines liées à une ou plusieurs chaînes polyalkylèneglycol {par exemple PolyÉthylène-Glycol (PEG), on parle alors de protéines "PEGylées"}, des peptides, des polysaccharides, des liposaccharides, des oligonucléotides, des polynucléotides et des petites molécules organiques hydrophobes, hydrophiles ou amphiphiles ;
- et/ou des nutriments ;
- et/ou de produits cosmétiques ou phytosanitaires ;

caractérisé en ce qu'il consiste essentiellement à mettre en œuvre au moins un polyaminoacide selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 et/ou la composition selon l'une quelconque des revendications 13 à 22.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
.. T/FR2004/050209A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 C08G69/10 A61K47/34 A61K47/42 A61K9/51 C08G69/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 C08G A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                         | Relevant to claim No. |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Y          | WO 00/30618 A (FLAMEL TECHNOLOGIES)<br>2 June 2000 (2000-06-02)<br>cited in the application<br>the whole document<br>----- | 1,2                   |
| Y          | US 2002/169125 A1 (LEUNG ET AL.)<br>14 November 2002 (2002-11-14)<br>paragraph '0013!<br>-----                             | 1,2                   |
| Y          | WO 00/78791 A (UNIVERSITEIT GENT)<br>28 December 2000 (2000-12-28)<br>page 4, line 4 - line 16<br>-----                    | 1,2                   |
| A          | EP 0 179 023 A (BATTELLE MEMORIAL<br>INSTITUTE) 23 April 1986 (1986-04-23)<br>-----                                        |                       |
| A          | WO 87/03891 A (BATTELLE MEMORIAL<br>INSTITUTE) 2 July 1987 (1987-07-02)<br>-----                                           |                       |
|            | -/-                                                                                                                        |                       |

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the International filing date
- \*L\* document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*V\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

\*A\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

22 September 2004

04/10/2004

Name and mailing address of the ISA

Authorized officer

European Patent Office, P.O. 5810 Palestraat 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax. (+31-70) 340-3016

Lensen, H

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR2004/050209

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| A          | WO 96/29991 A (FLAMEL TECHNOLOGIES)<br>3 October 1996 (1996-10-03)<br>_____        |                       |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

. . . T/FR2004/050209

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) |  | Publication date |
|----------------------------------------|------------------|-------------------------|--|------------------|
| WO 0030618                             | A 02-06-2000     | FR 2786098 A1           |  | 26-05-2000       |
|                                        |                  | AU 1278000 A            |  | 13-06-2000       |
|                                        |                  | EP 1131056 A1           |  | 12-09-2001       |
|                                        |                  | WO 0030618 A1           |  | 02-06-2000       |
|                                        |                  | JP 2002530323 T         |  | 17-09-2002       |
|                                        |                  | US 6630171 B1           |  | 07-10-2003       |
| US 2002169125                          | A1 14-11-2002    | WO 02077036 A2          |  | 03-10-2002       |
| WO 0078791                             | A 28-12-2000     | AU 5376500 A            |  | 09-01-2001       |
|                                        |                  | WO 0078791 A2           |  | 28-12-2000       |
|                                        |                  | CA 2377267 A1           |  | 28-12-2000       |
|                                        |                  | EP 1189971 A2           |  | 27-03-2002       |
| EP 0179023                             | A 23-04-1986     | AT 60340 T              |  | 15-02-1991       |
|                                        |                  | CA 1336034 C            |  | 20-06-1995       |
|                                        |                  | DE 3581471 D1           |  | 28-02-1991       |
|                                        |                  | EP 0179023 A2           |  | 23-04-1986       |
|                                        |                  | JP 1963038 C            |  | 25-08-1995       |
|                                        |                  | JP 6089138 B            |  | 09-11-1994       |
|                                        |                  | JP 61101533 A           |  | 20-05-1986       |
|                                        |                  | US 4976962 A            |  | 11-12-1990       |
|                                        |                  | US 4888398 A            |  | 19-12-1989       |
| WO 8703891                             | A 02-07-1987     | CH 667874 A5            |  | 15-11-1988       |
|                                        |                  | WO 8703891 A1           |  | 02-07-1987       |
|                                        |                  | EP 0250492 A1           |  | 07-01-1988       |
|                                        |                  | JP 63502037 T           |  | 11-08-1988       |
|                                        |                  | US 4892733 A            |  | 09-01-1990       |
| WO 9629991                             | A 03-10-1996     | FR 2732218 A1           |  | 04-10-1996       |
|                                        |                  | AT 194490 T             |  | 15-07-2000       |
|                                        |                  | AU 706746 B2            |  | 24-06-1999       |
|                                        |                  | AU 5337796 A            |  | 16-10-1996       |
|                                        |                  | BR 9607863 A            |  | 30-06-1998       |
|                                        |                  | CA 2215254 A1           |  | 03-10-1996       |
|                                        |                  | CN 1183040 A            |  | 27-05-1998       |
|                                        |                  | DE 69609222 D1          |  | 17-08-2000       |
|                                        |                  | DE 69609222 T2          |  | 22-03-2001       |
|                                        |                  | DK 734720 T3            |  | 06-11-2000       |
|                                        |                  | EP 0734720 A1           |  | 02-10-1996       |
|                                        |                  | ES 2151138 T3           |  | 16-12-2000       |
|                                        |                  | WO 9629991 A1           |  | 03-10-1996       |
|                                        |                  | GR 3034613 T3           |  | 31-01-2001       |
|                                        |                  | IN 185295 A1            |  | 23-12-2000       |
|                                        |                  | JP 11503118 T           |  | 23-03-1999       |
|                                        |                  | NZ 305392 A             |  | 26-08-1998       |
|                                        |                  | PT 734720 T             |  | 29-12-2000       |
|                                        |                  | US 5904936 A            |  | 18-05-1999       |
|                                        |                  | ZA 9602446 A            |  | 07-08-1996       |

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No  
PCT/FR2004/050209A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
C1B 7 C08G69/10 A61K47/34 A61K47/42 A61K9/51 C08G69/48

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

C1B 7 C08G A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie * | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents                            | no. des revendications visées |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Y           | WO 00/30618 A (FLAMEL TECHNOLOGIES)<br>2 juin 2000 (2000-06-02)<br>cité dans la demande<br>le document en entier<br>----- | 1,2                           |
| Y           | US 2002/169125 A1 (LEUNG ET AL.)<br>14 novembre 2002 (2002-11-14)<br>alinéa '0013!                                        | 1,2                           |
| Y           | WO 00/78791 A (UNIVERSITEIT GENT)<br>28 décembre 2000 (2000-12-28)<br>page 4, ligne 4 - ligne 16<br>-----                 | 1,2                           |
| A           | EP 0 179 023 A (BATTELLE MEMORIAL<br>INSTITUTE) 23 avril 1986 (1986-04-23)                                                |                               |
| A           | WO 87/03891 A (BATTELLE MEMORIAL<br>INSTITUTE) 2 juillet 1987 (1987-07-02)<br>-----                                       |                               |
|             |                                                                                                                           | -/-                           |

 Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

## \* Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de l'inventeur ou sur la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

\*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'apparaissant pas à l'intérieur de la technique pertinente, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constitutif la base de l'invention

\*X\* document particulièrement pertinent; l'inventeur revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

\*Y\* document particulièrement pertinent; l'inventeur revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à l'un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

\*Z\* document qui fait partie de la même famille de brevets

|                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée                                                                                                                                                                   | Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale |
| 22 septembre 2004                                                                                                                                                                                                                         | 04/10/2004                                                       |
| Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale<br>Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentkant 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,<br>Fax. (+31-70) 340-3016 | Fonctionnaire autorisé<br><br>Lensen, H                          |

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No  
I/FR2004/050209

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| A         | WO 96/29991 A (FLAMEL TECHNOLOGIES)<br>3 octobre 1996 (1996-10-03)<br>-----                    |                               |

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

Renseignements reliés aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

11/T/FR2004/050209

| Document brevet cité au rapport de recherche |    | Date de publication |                                                                                                                      | Membre(s) de la famille de brevet(s)                                                                                                                                                                                                                                     | Date de publication                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----------------------------------------------|----|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| WO 0030618                                   | A  | 02-06-2000          | FR<br>AU<br>EP<br>WO<br>JP<br>US                                                                                     | 2786098 A1<br>1278000 A<br>1131056 A1<br>0030618 A1<br>2002530323 T<br>6630171 B1                                                                                                                                                                                        | 26-05-2000<br>13-06-2000<br>12-09-2001<br>02-06-2000<br>17-09-2002<br>07-10-2003                                                                                                                                                                                                     |
| US 2002169125                                | A1 | 14-11-2002          | WO                                                                                                                   | 02077036 A2                                                                                                                                                                                                                                                              | 03-10-2002                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| WO 0078791                                   | A  | 28-12-2000          | AU<br>WO<br>CA<br>EP                                                                                                 | 5376500 A<br>0078791 A2<br>2377267 A1<br>1189971 A2                                                                                                                                                                                                                      | 09-01-2001<br>28-12-2000<br>28-12-2000<br>27-03-2002                                                                                                                                                                                                                                 |
| EP 0179023                                   | A  | 23-04-1986          | AT<br>CA<br>DE<br>EP<br>JP<br>JP<br>JP<br>US<br>US                                                                   | 60340 T<br>1336034 C<br>3581471 D1<br>0179023 A2<br>1963038 C<br>6089138 B<br>61101533 A<br>4976962 A<br>4888398 A                                                                                                                                                       | 15-02-1991<br>20-06-1995<br>28-02-1991<br>23-04-1986<br>25-08-1995<br>09-11-1994<br>20-05-1986<br>11-12-1990<br>19-12-1989                                                                                                                                                           |
| WO 8703891                                   | A  | 02-07-1987          | CH<br>WO<br>EP<br>JP<br>US                                                                                           | 667874 A5<br>8703891 A1<br>0250492 A1<br>63502037 T<br>4892733 A                                                                                                                                                                                                         | 15-11-1988<br>02-07-1987<br>07-01-1988<br>11-08-1988<br>09-01-1990                                                                                                                                                                                                                   |
| WO 9629991                                   | A  | 03-10-1996          | FR<br>AT<br>AU<br>AU<br>BR<br>CA<br>CN<br>DE<br>DE<br>DK<br>EP<br>ES<br>WO<br>GR<br>IN<br>JP<br>NZ<br>PT<br>US<br>ZA | 2732218 A1<br>194490 T<br>706746 B2<br>5337796 A<br>9607863 A<br>2215254 A1<br>1183040 A<br>69609222 D1<br>69609222 T2<br>734720 T3<br>0734720 A1<br>2151138 T3<br>9629991 A1<br>3034613 T3<br>185295 A1<br>11503118 T<br>305392 A<br>734720 T<br>5904936 A<br>9602446 A | 04-10-1996<br>15-07-2000<br>24-06-1999<br>16-10-1996<br>30-06-1998<br>03-10-1996<br>27-05-1998<br>17-08-2000<br>22-03-2001<br>06-11-2000<br>02-10-1996<br>16-12-2000<br>03-10-1996<br>31-01-2001<br>23-12-2000<br>23-03-1999<br>26-08-1998<br>29-12-2000<br>18-05-1999<br>07-08-1996 |